

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main
(Direktor: Prof. Dr. F. HOFF)

**Untersuchungen über das
Glukuronsäuretransferasen-System
bei Gesunden und Kranken, insbesondere
bei zwei Formen von hämolytischem Syndrom**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu Frankfurt/Main

vorgelegt von
Lore Walther
aus Bad Homburg

Frankfurt/Main 1963

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main
(Direktor: Prof. Dr. F. HOFF)

**Untersuchungen über das
Glukuronsäuretransferasen-System
bei Gesunden und Kranken, insbesondere
bei zwei Formen von hämolytischem Syndrom**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu Frankfurt/Main

vorgelegt von
Lore Walther
aus Bad Homburg

Frankfurt/Main 1963

Dekan: Prof. Dr. W. Krücke
Referent: Prof. Dr. H. Fischer
Korreferent: Prof. Dr. W. Rotter
Mündliche Prüfung: 6.7.1963



Inhaltsverzeichnis.

A. Einleitung.

1. Die Glukuronsäurebindung und ihre Bedeutung.
2. Allgemeines zum Hämoglobinabbau.
3. Glukuronsäurefunktion bei verstärktem Hämoglobinabbau.
4. Fragestellung:
Hämoglobinabbau und Glukuronsäureausscheidung
bei zwei Formen von hämolytischen Anämien.

B. Methodischer Teil.

1. Auswahl geeigneter Bedingungen zur Glukuronsäurebestimmung.
Schilderung der Methode zur Glukuronsäurebestimmung.
2. Durchführung und Auswertung von Mentholbelastungen.
3. Durchführung und Auswertung von Bilirubinbelastungen.

C. Ergebnisse.

1. Glukuronsäurebestimmungen bei Gesunden im Harn,
im Serum,
in der Galle.

Mentholbelastungen bei Gesunden.
Bilirubinbelastungen bei Gesunden.
2. Glukuronsäureausscheidung bei kranken Vergleichspersonen.
3. Glukuronsäureausscheidung bei ikterischen Hämolysen,
bei nicht-ikterischen Hämolysen.

Mentholbelastungen und
Bilirubinbelastungen bei diesen Kranken.
4. Glukuronsäureausscheidung unter Transfusionen.

D. Diskussion.

- Zusammenfassung.
Literaturverzeichnis.

A. Einleitung.

Mit der vorliegenden Arbeit sollen Untersuchungen über die Glukuronsäureausscheidung beim Menschen unter normalen Verhältnissen, bei Belastungen und bei einigen Erkrankungen dargestellt werden. Den eigenen Befunden sollen verschiedene, für das Verständnis der Problemstellung notwendige Bemerkungen vorangestellt werden.

1. Die Bedeutung der Glukuronsäurebindung:

Die Bindung an Glukuronsäure ist eine der vielen Entgiftungsmöglichkeiten des Organismus. Die in der Leber gebildete Glukuronsäure verbindet sich mit Hydroxylgruppen von Alkoholen und Substanzen, die im Organismus in Alkohole oder Phenole umgewandelt werden können, z.B. Salicylsäure, Campher, Menthol, Scatol, Indoxyl(1). Ferner wird die Glukuronsäure an Carboxylgruppen aromatischer Carbonsäuren, z.B. Benzoesäure - und an Gallenfarbstoffe gebunden. Auch Hormone, die im Körper gebildet werden, können an Glukuronsäure gekoppelt werden. Durch diese Koppelung wird die Löslichkeit der betreffenden Substanz verändert. Wasserunlösliche werden wasserlöslich und können so mit dem Harn oder der Galle ausgeschieden werden.

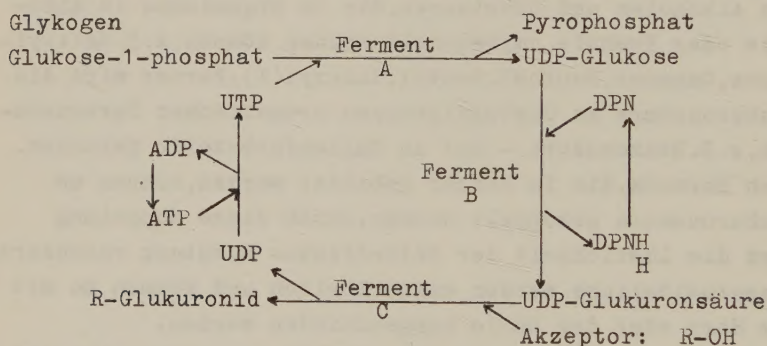
Uns soll hier die Beteiligung der Glukuronsäure bei der Ausscheidung von Bilirubin und der daraus entstehenden Gallenfarbstoffe beschäftigen und zwar besonders bei den Zuständen, bei denen diese Substanzen durch Hämolyse vermehrt anfallen.

2. Der Hämoglobinabbau und die Glukuronsäurefunktion:

Bilirubin entsteht aus dem Hämoglobin beim Zerfall von Erythrozyten. Der Abbau des Hämoglobins zum Gallenfarbstoff erfolgt in den Zellen des RES und zwar zum größten Teil im Retikuloendothel der Leber. Das freie Bilirubin wird vor seiner Ausscheidung in die Gallengänge in Leberzellen an Glukuronsäure gekoppelt, und so aus der nativen, nicht wasserlöslichen Form in eine löslich überführt(2-7). Dazu ist ein Transferasensystem nötig, das

sich in den Mikrosomen der Leberzellen findet(8,9).Bezüglich der Frage,wo in der Leber diese Koppelung stattfindet,lassen sich die Leistungen der Kupffer'schen Sternzellen und der Parenchymzellen - bei dem engen anatomischen Kontakt und der funktionellen Einheit dieser Zellsysteme bei Exkretionsvorgängen - heute noch nicht trennen.Tierexperimentelle Untersuchungen,klinische und pathologisch-anatomische Befunde ergeben bisher keine einheitlichen Ergebnisse(10-13).

Die Bildung der Glukuronsäure und die Koppelung bestimmter Stoffe an sie geht nach folgendem Schema vor sich (vgl.Hollmann):



UDP = Uridyl-diphosphat

UTP = Uridyltriphosphat

Ferment A = UDP-transferase

Ferment B = Dehydrogenase

Ferment C = Glukuronyltransferase

ADP = Adenosin-diphosphat

ATP = Adenosin-triphosphat

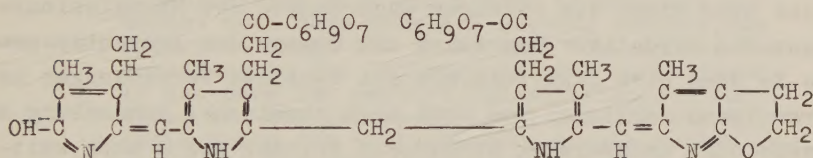
DPN = Diphosphorpyridinnukleotid

DPNH= reduzierte Form von DPN

Zur Bildung von Glukuronsäure sind also mehrere Schritte nötig.Auf Glukose-1-phosphat wird mit Hilfe einer Transferase(Ferment A)Uridyldiphosphat übertragen.Die Oxydation der im Uridyl-Coferment gebundenen Glukose zu Glu-

kuronsäure ermöglichen wasserstoffübertragende Fermente ($\text{DPN} \rightleftharpoons \text{DPNH} + \text{H}$). Die Verbindung Glukuronsäure-Uridyldiphosphat stellt die aktivierte Form dieser Substanz dar. Nur aus dieser Bindung, nicht als freie Säure, kann Glukuronsäure auf Akzeptoren übertragen werden (9, 14). Das hierbei wirksame Ferment (C), die Glukuronyltransferase, ist streng substratspezifisch. Die oxydative Phosphorylierung ($\text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP}$) liefert die zur Bildung von stoffwechselaktiven Formen nötigen Phosphatverbindungen.

Auf diese Weise wird in der Leber die Glukuronsäure auf sonst nicht wasserlösliche exogene und endogene Substanzen übertragen, so auch auf Bilirubin. Hierbei entstehen zwei Arten von Verbindungen: ein Mono- und ein Diglukuronid dieses Farbstoffes. Es sind jeweils die Propionsäurecarboxylgruppen des Bilirubins verestert (15, 16) :



Beide Formen kommen in Serum und Galle vor und geben sofortige, direkte Highmans-vanden-Bergh-Reaktion, wogegen die freie Form des Bilirubins indirekt, d. h. erst nach Zusatz von Alkohol die Farbreaktion liefert (16).

Bilirubin entsteht aus Hämoglobin. Dieser Hutfarbstoff besteht aus einem Protein, dem Globin, und einer prosthetischen Gruppe, dem Häm. Dieses, ein komplexes Eisensalz des Protoporphyrins, verleiht dem Proteid Farbstoffcharakter.

Beim Abbau des Hämoglobins wird nach heutiger Auffassung zuerst der Tetrapyrrolring geöffnet, ohne daß das Eisen entfernt wird. Die so entstehende Verbindung, das Choleglobin, wird unter Abspaltung von Protein und Eisen zu Biliverdin, welches zu Bilirubin reduziert werden kann. Diese Vorgänge spielen sich im RES

des Organismus ab(17),den Hauptanteil an diesem Abbau hat die Leber.

Bilirubin wird - wie oben beschrieben - in der Leber zu einem großen Teil an Glukuronsäure gekoppelt und mit der Galle in den Darm ausgeschieden.80% dieses Bilirubinglukuronids sind Verbindungen mit zwei Molekülen Glukuronsäure.Im Darm werden die Bilirubinoide durch Bakterien zu Stercobilinogen reduziert und als Stercobilin mit den faeces ausgeschieden.Ein anderes Reduktionsprodukt des Bilirubins,das Urobilinogen,wird vom Darm aus wieder rückresorbiert,passiert die Leber und verläßt über Kreislauf und Nieren den Körper.Wie Watson in jungster Zeit mitgeteilt hat(36),wird nur glukuronisiertes Bilirubin im Darm zu Stercobilinogen reduziert.

Urobilinogen und Stercobilinogen,welche aus Bilirubin in der Leber und durch bakterielle Reduktion im Darm entstehen, sind aber nicht die einzigen Endprodukte des Hämoglobinabbaus.Ein oxydativer Weg führt zur Gruppe der Propentdyopente.Es sind dies Dipyrrole,die als farblose Verbindungen im Organismus vorliegen und erst nach chemischer Umwandlung als Farbstoffe nachweisbar werden.Ein dritter Weg - noch weitgehend unerforscht - führt vom Hämoglobin direkt oder vom Bilirubin aus zu Mesobilifuscin,ebenfalls eine Verbindung aus zwei Pyrrolringen(18,19).Über den prozentualen Anteil des oxydativen Bilirubinabbaus bestehen noch kaum fundierte Angaben.Nach Watson(36)ist er ohne große physiologische Bedeutung(unter 10%).

Diese verschiedenen Wege können ineinander einmünden oder auch ganz getrennt verlaufen,was die Schwierigkeit einer quantitativen Erfassung der Blutmauserung deutlich macht.

Glukuronsäurefunktion bei verstärktem Hämoglobinabbau:

Ein gesteigerter Blutzerfall wird nach der heutigen Auffassung seinen Ausdruck in einer Vermehrung des anfallenden Bilirubins finden.Vermehrtes Bilirubin belastet das Gluku-

ronyltransferasensystem, da der Farbstoff nur in wasserlöslicher Form, d.h. als Glukuronid eliminiert werden kann. Die verstärkte Blutmauserung sollte daher auch mit einer erhöhten Glukuronsäureausscheidung einhergehen.

Das Bilirubin, das sich bei hämolytischen Erkrankungen vermehrt im Blut nachweisen läßt, ist noch nicht durch die Leber zu Glukuroniden umgewandelt. An die Koppelungsleistung der Leber und die konsekutive Ausscheidung sind durch den stärkeren Anfall von Bilirubin erhöhte Anforderungen gestellt.

Ein Anstieg des Serumbilirubins ist aber nicht immer mit einer erhöhten Anforderung an diese Entgiftungsleistung der Leber gleichbedeutend: bei einem Ikterus, der durch einen Leberschaden oder eine Stauung in den abführenden Gallenwegen hervorgerufen wird, wird die Menge der Gallenfarbstoffe, die die Leber zu verarbeiten hat, nicht erhöht. Die Bindung von Bilirubin und Glukuronsäure wird bei diesen Krankheiten zunächst noch ohne merkbare Störung besorgt, das Bilirubin liegt als Glukuronid vor, nur die Ausscheidung in die Gallengänge oder durch diese in den Darm ist gestört. Charakteristisch für diese Art der Leberschädigung ist, daß das Bilirubin, durch die Glukuronsäure wasserlöslich gemacht, mit dem Urin ausgeschieden wird.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen über die Glukuronsäurefunktion - insbesondere beim Hämoglobinabbau - soll nun die eigentliche Fragestellung meiner Arbeit erläutert werden.

4. Der Hämoglobinabbau bei hämolytischen Erkrankungen:

Ein großer Teil unserer Untersuchungen wurde bei hämolytischen Erkrankungen vorgenommen, bei solchen mit vermehrtem Bilirubin im Blut und bei hämolytischen Syndromen, die ohne Ikterus verliefen.

Im allgemeinen finden wir bei Hämolysen folgendes typische Syndrom: gesteigerter Erythrozytenzerfall, bedingt durch eine verkürzte Lebensdauer der roten Blutkörperchen, vermehrter Anfall von Abbauprodukten des Blutfarb-

B. Methodischer Teil.

Die Voraussetzung für Untersuchungen über die Glukuronsäureausscheidung in Harn, Serum und Galle ist eine einfache, aber genaue Bestimmungsmethode. Meine erste Aufgabe war es daher, eine solche auszuwählen und gegebenenfalls für unsere Zwecke zu modifizieren.

In der Literatur finden sich die Methoden von Fishman(20) und Heyde(21), die beide auf dem gleichen Prinzip beruhen: Glukuronsäure wird mittels Saurehydrolyse aus ihren Verbindungen in Freiheit gesetzt. Durch Koppelung an Naphthoresorcin entsteht ein Farbstoff, der nach Extraktion photometrisch bestimmt wird (Eppendorf-Photometer, Filter 578 m μ , 1 ml Küvette).

Die Methode, die von Heyde angegeben wird, ist einfach, ist aber nur zu Harnuntersuchungen zu gebrauchen. Fehler durch Polyoxysäure oder Zucker(22), die auf dem Mitreagieren dieser Stoffe bei der Farbreaktion beruhen, können durch entsprechende Verdünnung ausgeschaltet werden, da die recht hohe Konzentration von Glukuronsäure im Harn eine solche zuläßt.

Die Methode von Fishman umgeht diese Störungsquellen, indem die freien OH-Gruppen von Säuren und Zuckern oxydiert werden, wobei die gebundene Glukuronsäure nicht angegriffen wird und nach ihrer Freisetzung durch Hydrolyse bestimmt werden kann. Diese Methode ist daher genauer aber komplizierter als die erstgenannte; sie ermöglicht erst die Bestimmung von Glukuronsäure im Serum.

1. Hydrolysendauer und Verdünnungen:

Ein wichtiger und für die Reproduzierbarkeit ausschlaggebender Faktor liegt in der Art, wie die Hydrolyse vorgenommen wird. Es spielen dabei die Konzentration der Glukuronsäure, Dauer und Temperatur während der Hydrolyse eine Rolle.

Bei relativ hohen Konzentrationen und langer Hydrolyse wird ein Teil der freigesetzten Glukuronsäure früh wieder zerstört, da diese hohen Temperaturen gegenüber empfindlich ist. Dagegen wird bei zu kurzer Hydrolyse und geringen Temperaturen das Maximum der Ausbeute nicht erreicht, bevor die Zerstörung der freien Säure einsetzt; und auch so werden die gemessenen Werte zu niedrig.

Abb. 1 u. 2 sollen zeigen, daß sowohl im Harn als auch in reinen Lösungen von Glukuronsäurelaktan die Ausbeute mit steigender Hydrolysedauer nach einem gewissen Zeitpunkt wieder geringen wird, und zwar umso früher, je höher die Konzentration des Substrates am Anfang war.

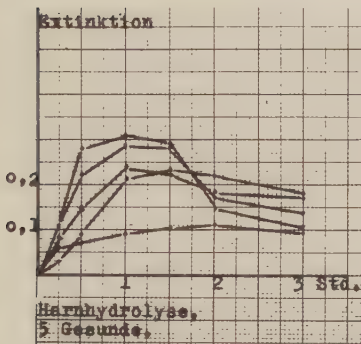


Abb. 1 : Das Maximum der Ausbeute ist etwa nach 60 Min. Hydrolyse erreicht, danach stärkerer Abfall durch Zerstörung.

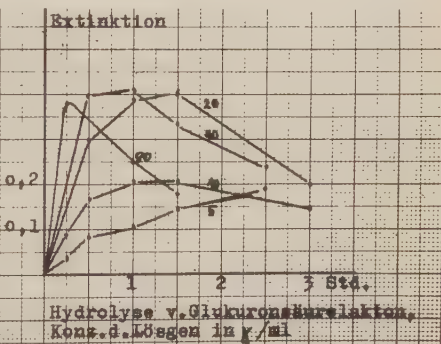
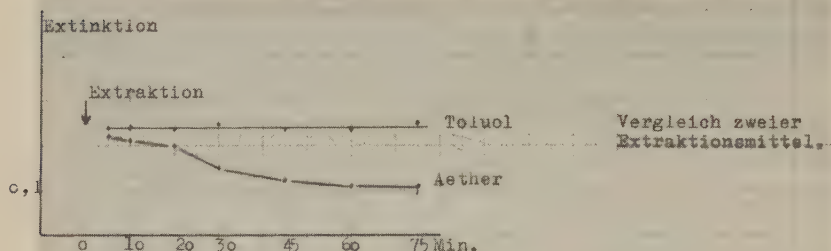


Abb. 2 : Je höher der Gehalt des Materials an Glukuronsäure, umso früher setzt die Zerstörung der freien Substanz ein.

Hieraus folgt einmal, daß man eine Konzentration an Glukuronsäure im Untersuchungsmaterial wählen muß, die 40 g/ml nicht überschreitet, zum anderen, daß die beste Hydrolysedauer bei etwa 60 Minuten liegt. Die Ausbeute an Glukuronsäure aus Lösungen von verschiedenen Ausgangskonzentrationen nimmt dann etwa gleichmäßig zu, und eine wesentliche Zerstörung macht sich noch nicht bemerkbar.

Abb.5 soll zeigen, wie sich die Extinktionswerte nach der Extraktion bei Verwendung von zwei verschiedenen Lösungsmitteln verändern.

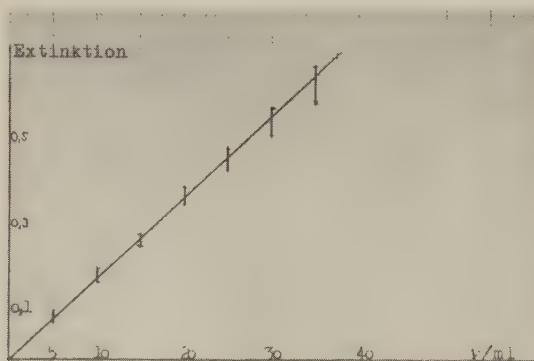


6. Die Fehlergrenze der Methode.

Kontrollen der Methode führten wir mittels Zusatz von Eichlösungen bekannten Gehaltes an Glukuronsäure zum Untersuchungsmaterial durch. Die Erhöhung der Glukuronsäurekonzentration äußert sich in einer (nach Eichkurven zu fordernden) Extinktionszunahme.

7. Eichkurve.

Mit Lösungen von Glukuronsäurelaktone ergeben sich reproduzierbare Eichkurven, die mit beiden Methoden gut übereinstimmen.



Hydrolyse von Glukuronsäurelaktone
(Dauer 1 Std.)

Die Methoden werden im folgenden beschrieben. Bei Harnuntersuchungen alleine verwendeten wir die erste der genannten. Waren außerdem Bestimmungen in Serum und Galle durchzuführen, gingen wir nach der zweiten Art vor.

1. Methode (nach Heyde, mod.)

- 1 ml Harn, verdünnt
- + 1 ml Naphthoresorcinlösung 0,4%
- + 1 ml Salzsäure, konz.
einstündige Hydrolyse
im Wasserbad bei 98°C, abkühlen lassen.
- + Alkohol-Toluol-Gemisch,
bis zur vollständigen Farbextraktion
ausschütteln.
Extinktionsmessung im Eppendorffphoto-
meter in 1 ml Kuvette bei Filter 578 m μ
gegen Toluol-Alkohol-Gemisch.

Die Eichlösungen werden ebenso behandelt.

2. Methode (nach Fishman, mod.)

Glukuronid-Glukuronsäure:		Gesamt-Glukuronsäure:
Harn, Serum, Galle	: 5,0 ml	-
Puffer	: 2,05 ml	2,05 ml
Jod-jodkalilösung	: 1,50 ml	1,50 ml
	30 Min. stehen lassen.	sofort zufügen:
+ NaHSO ₄	: 0,15 ml	0,15 ml
+ H ₂ SO ₄ 6n	: 0,30 ml	0,30 ml
		+ 5,0 ml Harn, Serum,

Je zwei ml dieser Lösungen werden weiter verarbeitet:

- 2,0 ml
- + 1,0 ml Naphthoresorcin 0,4%
- + 1,0 ml H₂SO₄ 18n
einstündige Hydrolyse
im Wasserbad bei 98°C.
Abkühlen lassen.
- + Alkohol-Toluol-Gemisch
Bis zur vollständigen Farbextraktion
ausschütteln.
Extinktionsmessung im Eppendorffphoto-
meter in 1ml Kuvette bei Filter 578 m μ
gegen Alkohol-Toluol-Gemisch.

Puffer, pH 10,1 : 8,4g NaHCO_3
+ 36,0g Na_2CO_3 in 1000 ccm aqua dest.

Jod-jodkalilösung: 1,27 g Jod in 100 ml Jodkalilösung
12,5%.

NaHSO_4 -Lösung : 10,4 g pro 100 ml aqua dest.

Alkohol-Toluol-
Gemisch : 3,0 ml abs. Alkohol
+ 4,0 ml Toluol ,mischen, zur Extraktion verwenden.

Berechnung:

Eichkurve :
$$\frac{y/\text{ml d. Eichlsg.} \times 9}{2 \times 5} = \text{Glukuronid-Glukuronsäure/ml}$$

Eichlösungen enthielten 5, 10, 20 μ g Glukuronsäure/ml aqua dest.

Serum : aus der Eichkurve die Werte in $\mathcal{Z}$ ablesen,
Galle : die den ermittelten Extinktionswerten
Harn : zugehören.

$$\frac{x \text{ Gluk. Glukuronsäure} \times 9 \times V \times 100}{1000 \times 2 \times 5} = \text{mg\%}$$

Serumteiweißung: 2 ml Serum
+ 16 ml aqua dest.
+ 1 ml Na-wolframat
+ 1 ml H_2SO_4 0,66n stehen lassen,
filtrieren.

Mentholbelastung nach Beck(38):

Belastet wurde mit 1g und 2g Menthol, welches in Kapseln verabreicht wurde. Es wurde mit 1/2 Liter Flüssigkeit eingenommen und während der Versuchszeit Bettruhe eingehalten. Die Trinkmenge war mit 1500 ml an diesem Tag bei den Versuchspersonen die gleiche. Die Bestimmung der Mehrausscheidung an Glukuronsäure unter der Belastung nahmen wir in einzelnen Harnportionen vor (3 Std., 3 Std., 6 Std., 12 Std.), um zu sehen, wo das Maximum der Ausscheidungssteigerung liege.

Bilirubinbelastungen:

führten wir folgendermaßen durch: 50 mg, 100 mg bzw. 150 mg Bilirubin (Homburg) wurden intravenös injiziert, nachdem nüchtern Blut entnommen worden war. Erneute Blutentnahme nach drei Minuten und nach drei Stunden.

Bilirubin wurde nach der Methode von Jendrassik (23) bestimmt. Den Wert für das direkt-reagierende lasen wir nach einer Minute, den für das gesamte Bilirubin nach zehn Minuten ab.

Die Ergebnisse wurden wie folgt ausgewertet: der Anstieg des Serumbilirubins drei Minuten nach der Injektion wurde gleich 100% gesetzt. Der Abfall des Wertes nach drei Stunden wurde auf diese Zunahme bezogen. Eine Retention von 40%, verglichen mit dem Zuwachs drei Minuten nach der Injektion, wird als normal angesehen.

Der Urin wurde während der Belastungen über zwölf Stunden in 3-Std. portionen gesammelt und die Glukuronsäure in den einzelnen Proben getrennt bestimmt.

C. Ergebnisse.

Nachdem wir im vorangehenden Teil die Methodik besprochen haben, sollen nun die Ergebnisse der Untersuchungen dargelegt werden.

1. Glukuronsäureausscheidung bei Gesunden im Harn,
im Serum,
in der Galle.

Belastungen mit Menthol,
mit Bilirubin bei Gesunden.

2. Glukuronsäureausscheidung bei verschiedenen Krankheiten.

3. Glukuronsäureausscheidung bei anikterischen,
u. ikterischen Hämolyisen.

Belastungen mit Menthol,
mit Bilirubin bei diesen Hämolyisen.

4. Glukuronsäureausscheidung unter Transfusionen.

Diese Reihenfolge mußte eingehalten werden, da wir uns zuerst ein Bild von der Reaktionsweise des UDP-Glukuronsäuresystems machen mußten und wir die Literaturangaben über die Normwerte wegen der verschiedenen Methoden nicht ohne weiteres übernehmen konnten.

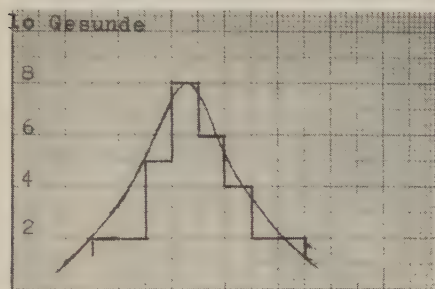
1. Untersuchung bei Gesunden.

Normale Ausscheidung.

Bei 32 gesunden Personen wurde die Ausscheidung an Glukuronsäure im Harn bestimmt. Sie erhielten zu dieser Zeit keinerlei Medikamente und waren klinisch frei von manifesten Nieren- und Lebererkrankungen. Die Verteilung der Werte (Mittelwerte aus Messungen, die bei einzelnen Personen an verschiedenen Tagen vorgenommen wurden) ist aus folgender Tabelle zu entnehmen:

1. 150 mg/die	11. 315 mg/die	22. 385 mg/die
2. 185 mg/die	12. 300 mg/die	23. 375 mg/die
3. 220 mg/die	13. 340 mg/die	24. 380 mg/die
4. 238 mg/die	14. 320 mg/die	25. 400 mg/die
5. 255 mg/die	15. 345 mg/die	26. 408 mg/die
6. 290 mg/die	16. 312 mg/die	27. 410 mg/die
7. 275 mg/die	17. 345 mg/die	28. 435 mg/die
8. 275 mg/die	18. 305 mg/die	29. 455 mg/die
9. 260 mg/die	19. 370 mg/die	30. 470 mg/die
10. 285 mg/die	20. 350 mg/die	31. 505 mg/die
	21. 358 mg/die	32. 520 mg/die

Wie aus der Zusammenfassung in Gruppen hervorgeht, liegt der Durchschnitt bei 330-350 mg Glukuronsäure im Harn pro Tag:



Tägliche Glukuronsäureausscheidung im Harn bei 32 Gesunden.

Glukuronsäureausscheidung

Bei Serumuntersuchungen Gesunder ergab sich folgendes:

Wir fanden im nicht-enteiweißten Serum bis 9 mg%

im enteiweißten Serum bis 2 mg% Gesamtglukuronsäure.

Glukuronsäure im nicht-enteiweißten im enteiweißten Serum.

1.	8,0 mg%	1,5 mg%
2.	7,0 mg%	1,0 mg%
3.	7,5 mg%	1,7 mg%
4.	5,8 mg%	0,8 mg%
5.	6,5 mg%	1,3 mg%
6.	7,0 mg%	1,8 mg%
7.	4,0 mg%	1,5 mg%
8.	5,5 mg%	2,0 mg%
9.	6,8 mg%	1,0 mg%
10.	5,2 mg%	0,8 mg%

Wie daraus hervorgeht, ist es nicht einerlei, ob man zu den Untersuchungen das Serum enteiweißt oder nicht; eine Tatsache, auf der eventuell manche Diskrepanzen unter den Literaturangaben beruhen.

Wegen der geringen Konzentration an Glukuronsäure im eiweißfreien Serum und der Fehlerbreite der Methode, die in diesem Bereich einen großen Einfluß auf die Ergebnisse haben muß, versuchten wir möglichst ohne Serumuntersuchungen auszukommen.

Belastungen.

Belastungen des UDP-Glukuronsäuresystems führten wir mit Menthol durch, weil dieses als Glukuronid nur durch die Nieren ausgeschieden wird, sodaß man die Koppelungskapazität dieses Systems beurteilen kann, ohne mit Verlusten durch die Galle rechnen zu müssen.

Wie belasteten Gesunde mit 1g und 2g Menthol. Die Ausscheidungen an Glukuronsäure sind den folgenden Tabellen zu entnehmen. (Tagesausscheidung an Glukuronsäure im Harn).

Belastungen mit 1g Menthol bei 10 Gesunden:

Glukuron- säure/die	Vor- tag.	unter Menthol	folg. Tag.
He.	400 mg	1400 mg	320 mg
Sch.	540 mg	1380 mg	530 mg
we.	420 mg	1230 mg	540 mg
Za.	260 mg	1340 mg	320 mg
St.	380 mg	1220 mg	260 mg
Fe.	320 mg	1440 mg	330 mg
Wie.	300 mg	1360 mg	280 mg
XY.	280 mg	1400 mg	310 mg
Bä.	210 mg	1210 mg	200 mg
Zw.	450 mg	1380 mg	370 mg

Belastungen mit 2g Menthol bei 6 Gesunden:

Glukuron- säure/die	Vor- tag	unter Menthol	folg. Tag.
Mü.	260 mg	1770 mg	300 mg
We.	340 mg	2440 mg	280 mg
Fr.	420 mg	1880 mg	410 mg
Wei.	310 mg	2300 mg	320 mg
Za.	330 mg	2100 mg	340 mg
AB.	390 mg	1800 mg	370 mg

Unbelastet zeigten alle Versuchspersonen eine Glukuronsäureausscheidung, wie sie dem Normaldiagramm (s.o.) entspricht. Unter Belastung mit 1g Menthol steigt die Ausscheidung im Durchschnitt auf etwa 1340 mg Glukuronsäure pro Tag an;

bei Belastung mit 2g sind starke Schwankungen zu beobachten. Am Tage nach der Belastung ist die Glukuronsäureausscheidung zur Norm zurückgegangen.

Es hat uns nun weiter interessiert, wie schnell das Koppelungssystem anspricht. Bei einigen Versuchspersonen wurde der Harn unter der Mentholgabe fraktioniert untersucht. Das Ergebnis findet sich in der folgenden Zusammenstellung:

Glukuronsäureausscheidung(mg)
unter Belastung mit 1g Menthol:

	<u>1.-3.Std.</u>	<u>3.-6.Std.</u>	<u>6.-12.Std.</u>	<u>12.-24.Std.</u>
He.	600 mg	200 mg	300 mg	300 mg
Za.	680 mg	210 mg	200 mg	250 mg
Wie.	700 mg	205 mg	195 mg	260 mg
Fe.	720 mg	190 mg	320 mg	210 mg
XY.	800 mg	180 mg	200 mg	220 mg

Die Zahlen zeigen, daß die Glukuronierung sofort einsetzt und daß das Maximum der Mehrausscheidung an Glukuronsäure in der ersten drei Stunden liegt.

Ergebnis der Belastungen mit Menthol:

Die Koppelung und Ausscheidung der zu entgiftenden Substanz setzt sofort ein. Bei Belastung mit 1g Menthol steigt die Mehrausscheidung auf einen recht konstanten Wert an, während bei höheren Gaben der Glukuronsäuregehalt des Tagesurins stärker schwankt.

Bilirubinbelastungen führten wir mit 100 mg und 150 mg durch (Bilirubin "Homburg"). Nach drei Stunden war die Steigerung des Serumbilirubins, die drei Minuten nach der Injektion gemessen und gleich 100% gesetzt wurde, um etwa 60% abgesunken.

Die Werte des Serumbilirubins und die Ausscheidung von Glukuronsäure während der folgenden Stunden sind aus der Tabelle zu entnehmen:

Bilirubinbelastung bei Gesunden
mit 100 mg Bilirubin i.v.

Bilirubin im Serum	vor nach nach			Glukuronsäure im Harn:					
	3 Min	3 Std.		Zeit: 1.-3.	3-6	6-9.	9-12.	12-24 Std.	
1.	1,2	4,7	1,8 mg%	52	29	38	35	134	mg
2.	1,3	3,9	2,0 mg%	48	33	33	36	130	mg
3.	1,2	4,0	2,2 mg%	56	40	42	46	140	mg

Belastung mit
150 mg Bilirubin i.v.

4.	1,0	5,2	2,8 mg%	63	46	53	56	140	mg
5.	0,9	5,5	2,0 mg%	70	50	39	42	165	mg

Ergebnis:

Es zeigt sich, daß die Bilirubininjektion eine erhöhte Glukuronsäureausscheidung in den ersten drei Stunden hervorruft, die aber in der Gesamttagesausscheidung nicht über die Schwankungen der Normwerte hinausgeht, und erst durch fraktionierte Untersuchung des Harnes in 3-Std. Portionen erfaßbar wird.

Interessant ist an den Bilirubinbelastungen jedoch folgendes: obwohl intravenös zugeführtes Bilirubin nicht durch die Nieren eliminiert wird, steigt die Glukuronsäureausscheidung im Urin innerhalb von drei Stunden an. Dies ist vielleicht ein Hinweis darauf, daß vermehrte Entgiftung auf dem Weg über die Galle (wie beim Bilirubin) auch zu einer erhöhten Ausscheidung von Glukuronsäure im Harn führt.

Glukuronsäureausscheidung in der Galle.

Um die Beziehungen zwischen Gallen- und Harn-Glukuronsäure näher zu analysieren, haben wir Patienten mit totaler Gallenfistel untersucht. Wie wählten hierfür fünf Fälle aus, bei denen zum Zeitpunkt der Cholecystektomie kein Ikterus und keine nachweisbare Leberfunktionsstörung bestanden. Die Menge der durch die Fistel abfließende Galle betrug zwischen 450 und 600 ccm/die. Die tägliche Ausscheidung an Glukuronsäure mit der Galle lag zwischen 100 und 300 mg.

Bei den gleichen Patienten wurde im 24-Std.Harn eine Glukuronsäureausscheidung zwischen 300 und 2600 mg/die gemessen. Die Werte finden sich in nachfolgender Tabelle; außerdem die Glukuronsäureausscheidung einiger Patienten in den ersten Tagen nach größeren abdominalen Eingriffen.

Glukuronsäure in Harn und Galle bei Pat.mit Gallenfistel:

	Harn	Galle
1.	2600 mg/die	240 mg/die
2.	1160 mg/die	290 mg/die
3.	900 mg/die	180 mg/die
4.	2520 mg/die	210 mg/die
5.	300 mg/die	150 mg/die

Glukuronsäure im Harn von Frischoperierten:

	Harn
1.	800 mg/die
2.	320 mg/die
3.	2360 mg/die
4.	1430 mg/die
5.	2380 mg/die

Aus dieser Gegenüberstellung geht hervor, daß eine Beziehung zwischen Glukuronsäure im Harn und un der Galle nicht aufzustellen ist. Diese Feststellung wurde aber an Frischoperierten gewonnen und hat nur bedingte Aussagekraft; liegen doch die Verhältnisse so, daß je nach Art und Dauer der Narkose, Schwere des Eingriffes und je nach medikamentöser Behandlung unterschiedliche Mengen von exogenen und endogenen Giften eliminiert werden müssen. Es ist denkbar, daß der größere Teil durch die Nieren ausgeschieden wird, und eine sonst vielleicht vorhandene Korrelation zwischen Glukuronsäure in Harn und Galle gestört wird.

2. Untersuchungen bei verschiedenen Krankheiten.

Außer Gesunden untersuchten wir Patienten mit Lebererkrankungen, daneben Kranke mit nachgewiesenem starken Zellzerfall und solche, die unter Bedingungen standen, durch die größere Anforderungen an die Entgiftungsleistung der Leber gestellt werden (z.B. Bestrahlungen). Wir versuchten damit, einen Überblick darüber zu bekommen, welchen Einfluß klinisch und pathologisch-anatomisch gut definierte Krankheitsbilder auf die Entgiftungsfunktion der Leber und die Leistung

des betreffenden Fermentsystems haben könnten. Die Werte, die wir erhielten, sind der Tabelle zu entnehmen.

Glukuronsäureausscheidung im Harn bei Pat. mit verschiedenen Krankheiten.						(Messungen an versch. Tagen)
Zirrhosen (6 Pat.)	280	275	420	440	190	257 mg/die
	310	285	390	420	180	290 mg/die
	265		415	425	200	260 mg/die 275 mg/die
Verschluß- ikterus (3 Pat.)	1040	990	1085			mg/die
	1060	1015	1120			mg/die
	1080	1010	1110			mg/die
	1045					mg/die
Ikterus Meulen- gracht (2 Pat.)	520	620				mg/die
	485	590				mg/die
		615				mg/die
		600				mg/die
Tumor-Pat. unter RÖ. (5 Pat.)	220	160	210	120	170	mg/die
	235	185	190	160	190	mg/die
		175	200		185	mg/die
			210		200	mg/die
Tumor-Pat. ohne RÖ. (6 Pat.)	210	330	180	200	300	270 mg/die
	230	300	210	195	175	250 mg/die
	200	340		210	180	265 mg/die

Ergebnis: Die Glukuronsäureausscheidung bei Patienten mit Leberzirrhose liegt im Bereich der Norm. Die erhöhte Ausscheidung beim Verschlußikterus läßt sich durch die Gallenfarbstoffe, die mit dem Harn eliminiert werden müssen, erklären. Tumorpatienten mit und ohne Strahlentherapie zeigen eine Ausscheidung an Glukuronsäure, die unter den Normwerten liegt.

3. Kranke mit verstärkter Hämolyse.

Nach diesen Voruntersuchungen nun zu den beiden Gruppen von Hämolysen, auf die sich unsere engere Fragestellung bezieht. Zunächst die Glukuronsäureausscheidung bei Patienten, die das typische Hämolyse-Syndrom mit Ikterus aufwiesen.

Die Tagesausscheidung an Glukuronsäure (Messungen an zwei verschiedenen Tagen) ist der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Glukuronsäureausscheidung bei Pat. mit Hämolyse + Ikterus

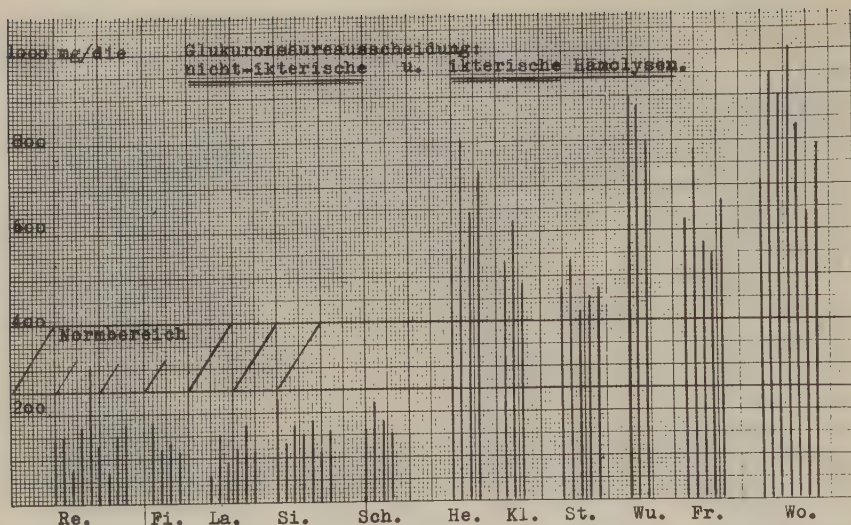
	Diagnose	Bilirubin im Serum	Urobilinogen im Harn	Glukuronsäure im Harn/die
He.	erw. hämol. A.	1,4mg%	vermehrt	640 mg 800 mg
Kl.	konst. hämol. Ikt.	3,5mg%	++	570 mg 530 mg
St.	konst. hämol. Ikt.	4,8mg%	++	400 mg
Wu.	erw. hämol. A.	4,0mg%	++	840 mg 900 mg
Fr.	erw. hämol. A.	5,2mg%	++	630 mg 770 mg
Wo.	hämol. Anämie	5,3mg%	++	850 mg 620 mg

Demgegenüber

Glukuronsäureausscheidung bei Pat. mit "Danaiden-Syndrom".

	Diagnose	Bilirubin im Serum	Urobilinogen im Harn	Glukuronsäure im Harn/die
Re.	myel. Leukämie	0,8mg%	∅	180 mg 215 mg
Fi.	aleuk. Leukämie	0,6mg%	∅	130 mg 160 mg
La.	aleuk. Leukämie	0,5mg%	∅	90 mg 140 mg
Si.	lymph. Leukämie	1,0mg%	∅	160 mg 190 mg
Sch.	Plasmaz. Leukämie	0,4mg%	∅	150 mg 200 mg

Nochmals eine andere Art der Gegenüberstellung, durch die der Unterschied der beiden Gruppen noch deutlicher wird:



Ergebnis: Wie man den Tabellen und der graphischen Übersicht entnehmen kann, liegt die Glukuronsäureausscheidung bei ikterischen Hämolyse über der, die wir bei Gesunden messen konnten; dagegen weisen nicht-ikterische Hämolytiker eine signifikant niedrigere Ausscheidung auf.

Es stellt sich gleichzeitig eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit solchen Kranken heraus, bei denen unter Röntgenbestrahlung - aber auch durch spontanen Tumorzellzerfall - Körperzellen in großem Ausmaß zerstört werden. Sie wiesen (Werte s.o.), ebenso wie die "Danaiden", eine Glukuronsäureausscheidung zwischen 150 und 350 mg pro Tag auf.

Die nächste Frage, die es zu beantworten galt, war, ob bei den Patienten mit Danaiden-Syndrom eine Schädigung des Transferasensystems vorhanden ist, oder ob - wegen des Fehlens von Bilirubin - keine Notwendigkeit zur Glukuronierung besteht.

Um dies zu entscheiden, haben wir

Belastungen

mit Menthol und Bilirubin durchgeführt. Zunächst das Ergebnis der Mentholbelastungen :

Glukuronsäureausscheidung
bei Belastung mit 1g Menthol
bei Hämolyse mit Ikterus.

	vor	Belastung	nach
Wo.	800	1900	900 mg/die
	880		850 mg/die
	790		
He.	700	2190	600 mg/die
	750		
Kl.	585	2000	620 mg/die
	640		

Glukuronsäureausscheidung
bei Belastung mit 1g Menthol
bei Hämolyse ohne Ikterus.

	vor	Belastung	nach
Fi.	180	1200	140 mg/die
	160		
Re.	170	1280	190 mg/die
	160		
Si.	140	1350	145 mg/die
	155		
La.	90	1100	125 mg/die
	110		

Ergebnis: Nicht-ikterische, atypische Hämolyse weisen eine Steigerung der Glukuronsäureausscheidung im Harn unter Mentholgabe auf, die etwa der Gesunder entspricht.

Patienten mit hämolytischem Ikterus erreichen unter derselben Belastung relativ höhere Ausscheidungswerte auf.

Die absolute Zunahme an Glukuronsäure im Harn unter Mentholbelastung entspricht bei den Danaïden der von gesunden Versuchspersonen; sie beträgt 1000-1100 mg am Belastungstag. Bei den Hämolyse mit Ikterus ist diese absolute Zunahme höher: 1200-1500 mg unter Mentholgabe.

Es zeigt sich also, daß Patienten mit Danaïden-Syndrom über

eine normale Glukuronierungskapazität verfügen und keine Insuffizienz des Fermentsystems vorliegen kann.

Ein weniger deutliches Ergebnis brachten die Belastungen mit 100 mg Bilirubin.

Bilirubinbelastungen(100mg)
bei Hämolysen mit Ikterus.

Bilirubin vor im Serum	nach			Glukuronsäure im Harn.				
	3 Min	3 Std.		Zeit:1.-3.	3-6	6-9	9-12.	12-24Std.
Kl.	2,8	6,0	3,1mg%	110	80	65	70	290 mg
St.	4,4	7,6	5,5mg%	100	60	40	35	200 mg

Bilirubinbelastung(100mg)
bei Hämolysen ohne Ikterus.

La.	0,8	4,2	1,8mg%	25	15	13	19	60 mg
Sch.	0,7	3,9	1,5mg%	36	20	20	25	95 mg

Bei beiden Gruppen von Kranken ist - wie bei Gesunden - eine Zunahme der Harnglukuronsäure in den ersten drei Stunden festzustellen, die jedoch nur in den Einzelportionen, nicht in der Gesamttagesausscheidung zum Ausdruck kommt. 100 mg Bilirubin i.v. stellen eben noch keine ernsthafte Belastung für das Transferasen-System dar, sodaß den Belastungsversuchen mit 1-2g Menthol mehr Beweiskraft zukommt.

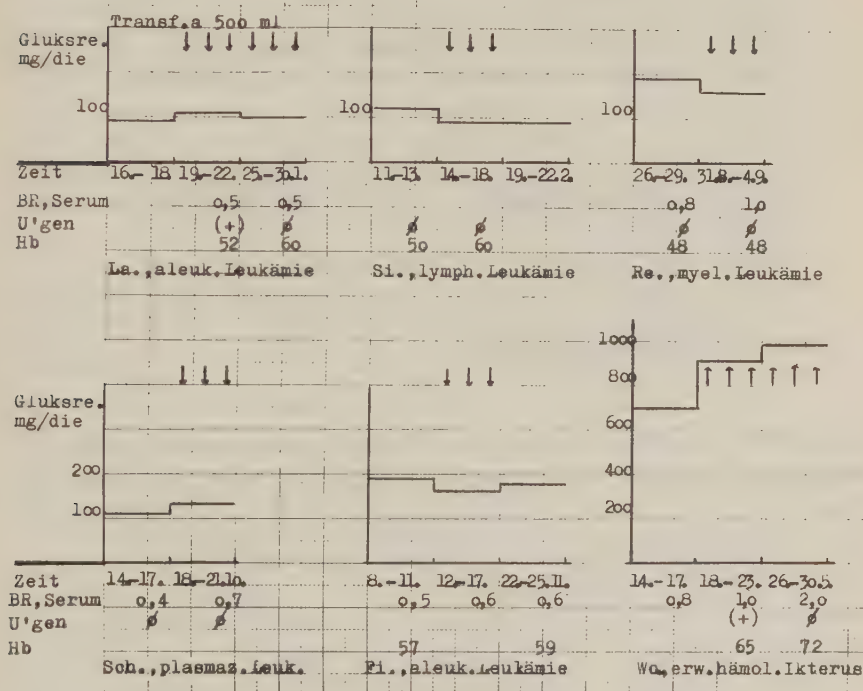
Nach den Belastungsversuchen mit Menthol und Bilirubin, lag es nahe, die Glukuronsäureausscheidung unter den Verhältnissen zu untersuchen, die zur Namengebung "Danaiden-Syndrom" geführt haben, nämlich unter wiederholten Bluttransfusionen. Wie eingangs geschildert, ist die Hämolyse der Danaiden latent; sie wird erst offensichtlich, wenn in kurzen Abständen große Hämoglobinemengen übertragen werden, die jedoch beim Empfänger nicht den erwarteten Effekt haben. Es galt daher zu klären, wie sich die Glukuronsäureausscheidung unter Belastung des Glukuronierungssystems mit Transfusionen verhält.

4. Glukuronsäureausscheidung unter Transfusionen.

Wir haben 5 Kranken mit anikterischer Hämolyse im Abstand von einigen Tagen jeweils 3-6 Blutkonserven verabreicht. Ein Patient mit hämolytischem Syndrom und Ikterus(Wo) erhielt ebenfalls 6 Transfusionen. Vor und während der Transfusionsperiode wurde die Glukuronsäureausscheidung im Harn bestimmt. Zum Vergleich wurden zwei hämatologisch Gesunde, Patienten mit Blutungsanämien, untersucht.

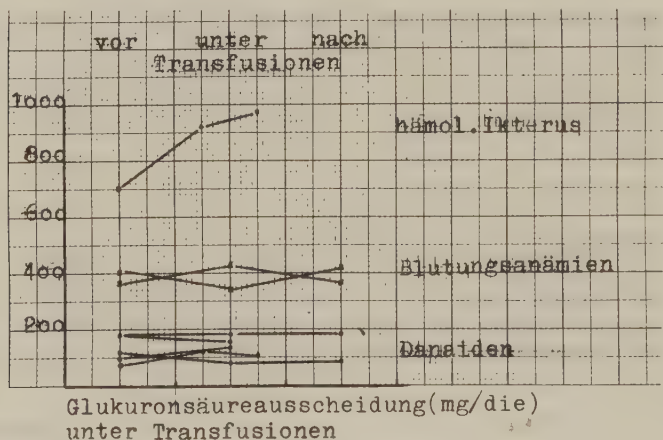
Das Ergebnis ist aus folgenden Kurven zu ersehen:

Glukuronsäureausscheidung unter Transfusionen
bei Pat.mit Danaiden-Syndrom und hämolytischem Ikterus.



Es zeigt sich, daß bei den 5 Patienten mit Danaiden-Syndrom praktisch keine Steigerung der an sich schon niedrigen Glukuronsäureausscheidung im Harn auftritt. Beim hämolytischen Ikterus (Wo.) dagegen steigt die hohe Ausscheidung noch weiter an.

Im folgenden ist die Glukuronsäureausscheidung im Harn unter Transfusionen noch einmal zusammenfassend dargestellt; zum Vergleich wird das Verhalten von zwei Blutungsanämien (keine Hämolyse!) mitaufgetragen.



Ergebnis: Bei den Danaiden wird unter Transfusionen das Entgiftungssystem für Bilirubin nicht beansprucht; ebenso verhält sich die Glukuronsäureausscheidung bei nicht hämolysierenden Patienten: sie steigt in beiden Fällen nicht an. Bei hämolytischem Syndrom mit Ikterus ist eine Steigerung der Glukuronsäure im Harn unter Transfusionen festzustellen.

Diskussion.

Mit der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob die fehlende Bilirubinvermehrung im Serum von "Danaiden", d.h. von Patienten mit hämolytischem Syndrom ohne Ikterus, mit einer Änderung in der Leistungsfähigkeit des Fermentsystems verbunden ist, welches durch Glukuronierung die Ausscheidung von Bilirubin ermöglicht.

Wir untersuchten die Leistungen des Glukuronsäuretransferasen-Systems bei Gesunden und bei Kranken mit hämolytischer Anämie unter normalen Bedingungen und unter Belastung mit Menthol, Bilirubin und während Transfusionsperioden; wir versuchten so, einen Einblick in die Leistungsfähigkeit dieses Entgiftungssystems zu bekommen.

Bevor unsere Ergebnisse, die mit einer von uns abgewandelten Methode gewonnen wurden, zur Beantwortung der eingangs gestellten Frage herangezogen werden können, müssen sie mit den im Schrifttum vorhandenen Ergebnissen in Beziehung gesetzt werden.

Bei 32 Gesunden untersuchten wir die Glukuronsäureausscheidung im 24-Std. Harn. Die ermittelten Werte lagen zwischen 200 und 400 mg/die. Als Durchschnitt ergab sich 330 mg/die. Dies entspricht dem, was wir in der Literatur über die Tagesausscheidung an Glukuronsäure im Harn fanden: nach Hoppe-Seyler: 40-400 mg/die
nach Wegmann : 300-600 mg/die.

Damit ist die Zuverlässigkeit unserer Methode und ihrer Auswertung bewiesen.

Im Serum fanden wir deutlich verschiedene Werte, je nachdem ob das Serum enteiweißt wurde oder nicht. Die Literaturangaben liegen unter 4 mg% Glukuronsäure (20, 24). Wir fanden im eiweißfreien Serum bis 2 mg%.

Für Serumuntersuchungen halten wir die hier benutzte Me-

thode zu ungenau, da die Ergebnisse in die Fehlerbreite hineinfallen. Wir verzichteten daher auf die Messungen im Serum; zur Beurteilung der Leistung des Entgiftungssystems genügen Harnuntersuchungen, da die Glukuronide vorwiegend über die Nieren ausgeschieden werden.

Was schließlich die Glukuronsäureausscheidung mit der Galle betrifft, so finden sich hierüber keine Angaben. Doch es muß in Rechnung gestellt werden, daß es bei Gesunden nicht möglich ist, die Galleausscheidung über 24 Stunden zu beobachten und Fistelgalle nur unter abnormen Bedingungen, nämlich postoperativ zu gewinnen ist.

Es ist daher erklärlich, daß es uns nicht gelang, eine Beziehung zwischen Glukuronsäureausscheidung durch Galle und Harn aufzustellen. Es scheint aber nach den bisherigen Untersuchungen keine feste Korrelation zu bestehen; das Verhältnis von Galle- zu Harnglukuronsäure hängt vielmehr davon ab, auf welchem Weg die glukuronierten Stoffe ausgeschieden werden. Tierexperimentell könnte diese Frage eventuell geklärt werden.

Bei fünf Frischoperierten fanden wir in der Fistelgalle eine Tagesausscheidung zwischen 150 und 300 mg Glukuronsäure.

Belastungen des Glukuronsäuretransferasen-Systems führten wir mit Menthol durch. Hierzu liegen bereits Erfahrungen aus dem Schrifttum vor. Beck fand einen Anstieg der Harnglukuronsäure auf etwa 1100 mg 12 Stunden nach der Gabe von 1 g Menthol.

Bei Belastung mit 1 g Menthol ermittelten wir eine Steigerung auf im Durchschnitt 1350 mg Glukuronsäure im Harn am Versuchstag. Die gut übereinstimmenden Werte zeigen, daß die hierdurch geforderte Leistung des wirksamen Fermentsystems durchaus im Rahmen des Möglichen liegt. Beim Gesunden erfolgt das Maximum der Mehrausscheidung innerhalb der ersten drei Stunden nach der Mentholgabe.

Die starken Schwankungen bei Belastung mit 2 g Menthol können so zu erklären sein, daß wir hiermit bei manchen Personen an die Grenze der Leistungsfähigkeit dieses Koppelsystems herangekommen waren, ohne daß man dies jedoch als eine krankhafte Störung der Leberfunktion ansehen müßte. Man kann annehmen, daß bei 2,5-3,0 g Glukuronsäureausscheidung pro Tag die Leistungen dieses Systems ausgeschöpft sind.

Mentholbelastungen führen eine eindeutige und erhebliche Mehrausscheidung an Glukuronsäure im Harn herbei; sie stellen also eine echte Belastung dar. Sehr viel geringer ist die Ausscheidungszunahme nach intravenöser Injektion von 100-150 mg Bilirubin. Bemerkenswert ist aber, daß sich die Glukuronsäurewerte im Harn überhaupt ändern; denn glukuronisiertes Bilirubin wird über die Galle in den Darm ausgeschieden.

Mit unseren Normwerten glaubten wir die Untersuchungsergebnisse von kranken Vergleichspersonen in Beziehung setzen zu können.

Bei den an verschiedenen Leberkranken durchgeführten Messungen fällt auf, daß man bei zT. außerordentlich schweren Schäden keine Minderung der Glukuronsäureausscheidung, also offenbar keine Insuffizienz dieses Entgiftungssystems findet. Dies entspricht den Beobachtungen bei anderen Funktionsproben der Leber, die auch erst deutlich pathologisch werden, wenn der weitaus größte Teil des Organs zerstört ist. Es könnte auch mit der Ansicht mancher Autoren übereinstimmen, die darauf hinweisen, daß eine Glukuronierung nicht ausschließlich in der Leber stattfinden könne: so findet man bei akuter, gelber Leberatrophie immer noch konjugiertes Bilirubin(27), sei es, daß noch genügend funktionstüchtige Leberzellen vorhanden sind, sei es, daß die benötigten Fermente bei der Zellzerstörung frei werden.

Die hohe Glukuronsäureausscheidung beim Verschlußikterus ist dadurch bedingt, daß die Gallenfarbstoffe ihren Weg über Kreislauf und Nieren nehmen und als Glukuronide im Harn ausgeschieden werden.

Für die Pathogenese des icterus intermittens juvenilis (Meulengracht) zieht man eine Insuffizienz des Koppelungssystems Bilirubin-Glukuronsäure in Betracht(28). Beck und Kühn(29) versuchten mit Mentholbelastungen nachzuweisen, daß der Glukuronidanfall im Harn unter diesen Belastungen verzögert und vermindert ist. Diese hier angenommene Entgiftungsschwäche der Leber(24), die auf einer verminderten Fermentaktivität der Mikrosomen beruhen soll(30,31,32), konnten andere Untersucher nicht nachweisen(33,34). Unsere Belastungen - allerdings nur drei - sprechen auch nicht dafür.

Bei einigen Kranken sahen wir eine besonders niedrige Ruheausscheidung an Glukuronsäure. Es waren Tumorpatienten, manche davon während einer Strahlenbehandlung. Die Erklärung könnte in folgendem zu suchen sein: durch Tumorzellzerfall und Bestrahlung mit nachfolgendem Zellzerfall werden über längere Zeit erhöhte Anforderungen an die Entgiftungsleistung des Organismus gestellt, denen er nicht in vollem Maße gewachsen sein könnte. Diese relative Insuffizienz der Leber mag sich klinisch in dem sogenannten Strahlenkater äußern. Die niedrige Ruheausscheidung an Glukuronsäure, die wir bei so behandelten Patienten gemessen haben, könnte damit übereinstimmen.

Mit den Untersuchungen bei ikterischen und nicht-ikterischen Hämolysen kommen wir zu den wichtigsten Ergebnissen bei der Bearbeitung dieses Themas. Es gelang uns an Hand unserer Messungen, eine scharfe Trennung dieser beiden

Gruppen von hämolytischen Anämien durchzuführen.

Es fand sich bei Patienten mit hämolytischem Ikterus eine deutlich erhöhte Ausscheidung von Glukuronsäure im Harn. Auch zwischen den einzelnen Krisen, wenn mit den üblichen klinischen Methoden kein Gallenfarbstoff im Serum nachweisbar ist, bleibt die Ausscheidung hoch. Es könnte dies der Ausdruck einer Aktivierung des Koppelungssystems sein, eine Anpassung an den gesteigerten Anfall von Substanzen, die entgiftet werden müssen.

Dafür sprechen auch die Mentholbelastungen, die wir in diesem Sinne glauben auslegen zu dürfen: Patienten mit hämolytischem Ikterus scheiden unter gleichgroßer Belastung mit Menthol absolut mehr Glukuronsäure aus als Gesunde unter ebensolchen Bedingungen.

Nicht-ikterische Hämolysen, die Danaiden, zeigen dagegen eine niedrigere Glukuronsäureausscheidung als Gesunde.

Unsere erste Arbeitshypothese, der fehlende Ikterus bei diesen hämolytischen Anämien sei mit einer überschnellen Glukuronierung und damit auch Eliminierung der Bilirubinabbauprodukte zu erklären, ist abzulehnen. In diesem Fall müssten wir eine Vermehrung des Transportstoffes, also eine hohe Glukuronsäureausscheidung fordern, da diese Endprodukte nur als Glukuronide ausgeschieden werden können.

Eine Insuffizienz des Glukuronierungssystems konnte als Ursache für die niedrige Ruheausscheidung bei diesen Patienten durch Mentholbelastungen ausgeschlossen werden.

Als Erklärung könnte der geringe Hämoglobinsatz in Frage kommen, der durch die starke Anämie bedingt ist und der einen nur geringen Anfall an Abbauprodukten zur Folge hat, wenn dieser auch gegenüber der Norm durch die hämolytischen Vorgänge relativ gesteigert ist.

Ebenso wie sich mit Mentholbelastungen bei ikterischen und nicht-ikterischen Hämolytikern ein voll leistungs-

fähiges Glukuronierungssystem nachweisen läßt, so zeigen auch beide Gruppen von Kranken bei intravenösen Bilirubinbelastungen keine Retention des zugeführten Farbstoffes. In den ersten drei Stunden steigt wie bei Gesunden die Glukuronsäureausscheidung im Harn an. Bei Patienten mit hämolytischem Ikterus ist der Anstieg deutlich höher. Die Gesamttagesausscheidung wird durch die relativ niedrige Belastung erklärlicherweise nicht beeinflußt. Es ist beachtenswert, daß dieser Anstieg auch bei den Danaiden zu beobachten ist. Da bei hämolytischen Vorgängen viel höhere Mengen an Hämoglobin-Abbauprodukten anfallen, müßte man an sich auch eine erhöhte Glukuronsäureausscheidung erwarten. Dies ist nur bei den Hämolytikern mit Ikterus der Fall. Bei ihnen steigt auch unter Transfusionen die Harnglukuronsäure weiter an.

Im Gegensatz dazu bleibt bei anikterischen Hämolysen die Glukuronsäureausscheidung niedriger als bei Gesunden und dies auch während Transfusionsperioden.

Kürzlich wurde von Watson (36) folgende Beobachtung mitgeteilt: Bilanzversuche ergaben bei einem Patienten mit chronischer Anämie eine Diskrepanz zwischen dem Ausmaß des Hämoglobinabbaues und der zu erwartenden Urobilinausscheidung. Da auch intraduodenal zugeführtes Bilirubin nicht an Hand der daraus entstehenden Abbauprodukte im Stuhl nachweisbar war, wurde von den Autoren eine pathologische Rückresorption von Bilirubin angenommen.

Wir dagegen schließen aus unseren Untersuchungen, daß bei diesen Hämolysen ohne Ikterus während des Abbaues von Blutfarbstoff gar kein Bilirubin entsteht.

Mit Vorsicht dürfen wir ableiten, daß der von Argenton und Fischer postulierte farblose Abbau, vor der Bilirubinbildung einsetzend, bei den Danaiden den Hauptweg des Hämoglobinabbaues darstellt.

Zusammenfassung.

1. Die Bedingungen zur Hydrolyse von Glukuroniden in Harn, Serum und Galle wurden studiert und eine von uns modifizierte Bestimmungsmethode für Glukuronsäure angegeben.
2. Bei 32 Gesunden wurde eine Tagesausscheidung an Glukuronsäure im Harn zwischen 250 und 400 mg gemessen. Die Glukuronsäurewerte im enteweißten Serum lagen unter 2 mg%.
In der Galle fanden wir bei 5 Patienten mit Gallenfistel eine Ausscheidung von 150-300 mg/die.
3. Bei Belastung mit 1 g Menthol ergab sich bei Gesunden ein Anstieg der Harnglukuronsäure um etwa 1100 mg. Bei der Gabe von 2 g zeigten sich stärkere Schwankungen, die höchste Ausscheidung betrug 2600 mg am Belastungstag.
Intravenöse Bilirubinbelastungen mit 100-150 mg hatten in den ersten drei Stunden nach der Injektion einen Anstieg der Harnglukuronsäure zur Folge, obwohl das konjugierte Bilirubin durch die Galle eliminiert wird. Die Gesamttagesausscheidung wurde davon jedoch nicht beeinflusst.
4. Untersuchungen an kranken Vergleichspersonen ergaben bei Lebercirrhosen eine normale Glukuronsäureausscheidung im Harn; ebenso beim icterus juvenilis Meulengracht. Patienten mit Verschlußikterus wiesen eine erhöhte Ausscheidung auf, bei Patienten mit malignen Tumoren war sie dagegen erniedrigt.
5. Bei zwei Gruppen von Patienten mit hämolytischen Anämien fanden wir einen eindeutigen Unterschied in der Ruheausscheidung, bei Belastungen und unter Transfusionen.
Kranke mit hämolytischem Ikterus weisen eine erhöhte Glukuronsäureausscheidung im Harn auf; diese ist auch bei Belastung mit Menthol und Bilirubin gegenüber der Norm erhöht. Unter Transfusionen zeigt sich ein weiterer An-

stieg der Harnglukuronsäure.

Hämolysen ohne Ikterus, d.h. Patienten mit "Danaidenphänomen", weisen trotz nachgewiesener Funktionstüchtigkeit des Glukuronierungssystems eine erniedrigte Ruheausscheidung an Glukuronsäure im Harn auf, die auch unter zusätzlicher Hämolysen nach Transfusionen nicht ansteigt.

Es wurde angenommen, daß bei diesen Formen von hämolytischer Anämie der Abbau des Blutfarbstoffes nicht über Bilirubin sondern über farblose Spaltprodukte des Häoglobins verläuft.

Literaturverzeichnis.

1. J.Marogg,T.Wegmann Dtsch.Med.Wschr.84,1256,1959
2. B.H.Billing,G.H.Lathe Biochem.J.63,6,1958
3. E.Talafant Nature 178,312,1956
4. R.Schmid J.Lab.Clin.Med.48,940,1956
5. P.G.Cole,G.H.Lathe J.Clin.Path.6,99,1953
6. R.Schmid,L.Hammaker Arch.biochem.biophys.70,285,1957
7. " " J.Clin.Invest.36,927,1957
8. G.J.Dutton Biochem.J.70,39,1958
9. A.K.Brown,W.W.Zuelzer J.Clin.Invest.37,332,1958
10. K.Yamaoka zit.nach T.K.With,Biologie der
Gallenfarbstoffe, Springer Verlag
1961,S.63
11. R.Gottlieb " "
12. E.de Robertis " "
13. H.Eppinger Leberkrankheiten, Springer Verlag
1937
14. S.Hollman,E.Wille Zschr.Phys.Chem.290,91,1952
14. " " Klin.Wschr.23,126,1955
15. R.Schmid J.Biol.Chem.229,881,1957
16. B.H.Billing,P.G.Cole Biochem.J.65,774,1957
17. F.C.Mann,T.B.Bagath Erg.Physiol.23,212,1955
18. W.Siedel,W.Stich,
F.Eisenreich Naturwissensch.10,316,1948
19. W.Siedel,W.v.Pölnitz Naturwissensch.10,314,1947
20. W.H.Fishman,S.Green J.Biol.Chem.215,527,1955
21. W.Heyde Arch.Gynäk.185,1,1954
22. Z.Dische J.Biol.Chem.167,189,1947

23. Med.Chem.Untersuchungen Merck, 9. Aufl. 102, 1959
24. K.Beck, B.Kiani Klin.Wschr. 38, 428, 1960
25. W.Heyde Ärztl.Forsch. XI, 2, 1958
26. H.Kaller, W.Koll Arch.Exr.Path.Pharm. 220, 225, 1953
27. C.J.Watson Enzym.Regul.i.d.Klinik, Basel 1960
28. W.Siede Dtsch.Med.Wschr. 15, 504, 1957
29. K.Beck, ^{H.A.}/Kühn Zschr.Klin.Med. 155, 547, 1959
30. J.M.Arias Gastroenterology 2, 1310, 1959
31. " , J.M.London Science 126, 563, 1957
32. " u.Mitarb. J.Clin.Invest. 37, 875, 1958
33. H.Barniville, R.Mish Brit.Med.J. 5118, 337, 1959
34. R.Schmid, L.Hammaker New Engl.Med.J. 260, 1310, 1959
35. H.Fischer, H.Argenton,
W.Fritsche 7.Freiburger Symposion,
Springer Verlag 1961
36. A.S.Gilbertsen,
C.J.Watson J.Clin.Invest. Vol. 41, No. 5, 1041,
1962

Nach Beendigung dieser Arbeit möchte ich

Herrn Prof.Dr.med.H.Fischer

meinen Dank aussprechen für die Überlassung
des Themas, für die Anregung und Hilfe wäh -
rend seiner Bearbeitung.

Auch Herrn Dr.med.H.Argenton danke ich für
seine Unterstützung bei der Anfertigung der
Arbeit.

Ehrenwörtliche Erklärung.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

Untersuchungen über das Glukuronsäuretransferasen-System bei Gesunden und Kranken
insbesondere bei zwei Formen von hämolytischen Anämien

in der I. Medizinischen Klinik der Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H. Fischer ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt habe und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen Mittel als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 3.6.1963

L. Valler

Lebenslauf.

Ich, Lore Hella Walther, wurde am 9.10.1936 als älteste Tochter des Arztes Dr.med.Max Walther und seiner Ehefrau Dr.med.Delia Walther, geb.Wilhelmi, in Bad Homburg geboren. Hier besuchte ich die Volksschule und legte nach 9-jährigem Besuch des Realgymnasiums für Mädchen am 14.3.1956 das Abitur ab. Das folgende Jahr verbrachte ich in Lima, Peru. Im Sommer 1957 begann ich mein Studium an der Medizinischen Fakultät zu Frankfurt/Main. Nach fünf Semestern legte ich im Juli 1959 die ärztliche Vorprüfung ab. Die beiden ersten klinischen Semester war ich an der Universität der Stadt Hamburg immatrikuliert. Im Herbst 1960 setzte ich mein Studium in Frankfurt fort, wo ich am 11.2.1963 das medizinische Staatsexamen beendete.

Seit dem 1. April 1963 bin ich als Medizinalassistentin tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

Herr Prof.Dr.med.F.Hoff (Innere Medizin)
Herr Prof.Dr.med.H.Fischer (Innere Medizin)
Herr Prof.Dr.med.B.de Rudder (Kinderheilkunde)
Frau Prof.Dr.med.K.Weiß (Kinderheilkunde)
Herr Prof.Dr.med.K.Wulf (Dermatologie)
Herr Prof.Dr.med.G.Kahlau (Pathologie)
Herr Prof.Dr.med.D.Starck (Anatomie)
Herr Prof.Dr.med.Berg (Innere Medizin)
Herr Prof.Dr.med.Zuckschwerdt (Chirurgie)

L Walther

